

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 21, 1983, pp. 83–89

Organ-Konservierung durch Schweres Wasser – Einfluß von D₂O-Konzentration und Temperatur auf die Organ-Schwellung

Von M. Wenzel

Pharmazeutisches Institut der Freien Universität Berlin und

J. H. Fischer

Institut für Experimentelle Medizin der Universität Köln

(Eingegangen am 22. März/28. September 1982)

Zusammenfassung: Das Ziel dieser Arbeit war es, an isolierten Organen (Niere und Leber von Mäusen, Leber von Ratten) den protektiven Effekt von D₂O bei ischämischer Inkubation in physiologischen Salz-Lösungen (z.B. Inkubations-Lösungen für die Lagerung von Transplantations-Organen) zu untersuchen. Als Meßgröße für die Organschädigung diente die Organschwellung (Gewichtsvermehrung durch die Einlagerung von Wasser).

Die Untersuchungen zeigten mit steigender Inkubationsdauer bei Nieren bzw. Leberschnitten eine zunehmende Ödembildung, die bei Inkubation in D₂O-haltigen Lösungen vermindert war. Der Schutzeffekt wird mit steigendem D₂O-Gehalt in der Inkubations-Lösung größer; die Dosis-Wirkungskurve verläuft jedoch nicht linear. D₂O-Anteile von 0,1–0,3 reichen meist aus, um 3/4 des maximalen Schutzeffektes zu erreichen. Durch Verwendung hypertonischer Inkubations-Lösungen (z.B. Mannit-Zusatz) konnte der Schutzeffekt des D₂O noch gesteigert werden. Der Schutzeffekt des D₂O beruht auf einer Membran-Stabilisierung und nicht auf einem verlangsamten Einstrom von D₂O im Vergleich zum H₂O, wie sich aus Diffusions-Versuchen mit Tritium-Wasser ergab.

Außerdem läßt sich sowohl an Hand der Ödembildung bei Niere und Leber als auch bei der Hämolyse von Erythrocyten (in 4 g/l NaCl-Lösung) zeigen, daß der Stabilisierungs-Effekt des D₂O bei 0–4 °C größer ist als bei höheren Temperaturen.

Organ preservation by heavy water D₂O –

Effects of D₂O concentration and temperature on oedema development during organ storage

Summary: It is still necessary to increase the storage time of ischaemic organs to be used in successful transplantations, so that these are viable for a longer period than at present. An early sign of organ damage during storage is increased water penetration leading to an oedema of the organ.

Since earlier results show that heavy water (D₂O) can stabilize biological systems against various impairments, we attempted to increase the resistance of stored organs to oedema by adding D₂O to the storage solution.

It was demonstrated using mouse kidneys and livers and rat livers that with D₂O the increase in weight which is caused by damage to membranes during the hypothermic and ischaemic storage in different solutions could be partly inhibited. The dose response curve between resistance to oedema and D₂O concentration is not linear, lower D₂O concentrations resulted in a higher increase of viability than higher concentrations.

The inhibition of organ oedema by hyperosmolarity (high mannitol concentration in the preservation solution) could further be increased by the addition of D₂O.

It could also be shown that the protective effect of D₂O increases with decreasing storage temperatures.

Einführung

Bei der Organkonservierung – d.h. der Aufbewahrung isolierter Organe zwischen Entnahme und Transplantation – bestehen auch heute noch große Probleme hinsichtlich der Erhaltung der „viability“, d.h. der Fähigkeit, im Organempfänger eine lebenserhaltende Funktion wieder aufzunehmen. Sieht man einmal von komplizierten Perfusionsverfahren ab, so ist die Konservierungsdauer bei Verwendung der hypotherm ischämischen Lagerung (d.h. Durchspülen mit speziellen Konservierungs-Lösungen und anschließender Aufbewahrung bei Temperaturen zwischen 4 und 10 °C) für Nieren auf etwa 24 h und für Lebern auf 8–12 h limitiert (1, 1a). Nach längeren Konservierungs-Zeiten ist eine ausreichende Funktionsrestitution des Transplantates in einem geringeren Anteil und erst nach beträchtlich längeren Erholungs-Perioden möglich, welche sich allenfalls bei Nieren-Transplantationen mit der „künstlichen Niere“ überbrücken lassen, nach Leber-Transplantationen aber nicht toleriert werden. Für das Herz sind die zur Zeit mit der hypotherm ischämischen Lagerung erzielbaren Zeiten so kurz, daß für eine Herzkonservierung bisher nur Dauerperfusionsverfahren empfohlen werden (2). Daher verdient jede neue Möglichkeit zur Verlängerung der Überlebenszeit der Organe eine eingehende Prüfung.

Bei verschiedenen Zellen oder Zellbestandteilen führt ein völliger oder teilweiser Ersatz des Lösungsmittels H_2O durch D_2O (Schweres Wasser) zu Veränderungen der Struktur biologischer Makromoleküle, die eine Stabilisierung und verringerte Anfälligkeit gegenüber schädlichen Einflüssen bewirken können. So werden Proteine in D_2O durch erhöhte Temperaturen weniger schnell denaturiert und Erythrocyten sind in D_2O resistenter gegenüber thermischer oder osmotischer Schädigung (3–5). Die durch eine Ischämie – d.h. völligen Durchblutungsstop – hervorgerufenen Schäden an Herz, Leber oder Niere sind – soweit mit Hilfe biochemischer und morphologischer Kenngrößen erfassbar – in den meisten Fällen unter D_2O geringer als ohne diesen Schutz (6–9).

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, daß auch Sauerstoffmangel-Perioden des ganzen Organismus unter D_2O besser toleriert werden. In Asphyxie, d.h. Unterbindung der äußeren Atmung, überlebten nar-kotisierte Ratten bei einem D_2O -Anteil am Gesamtkörperwasser von 0,25 signifikant länger als die Vergleichstiere ohne D_2O (10).

Angesichts der eben genannten Befunde könnte ein Zusatz von D_2O zu den Konservierungsmedien für die hypotherme Lagerungs-Konservierung von Or-

gantransplantaten zu einem besseren Schutz dieser Organe führen. Bevor jedoch ein Einsatz von D_2O z.B. in Konservierungs-Lösungen für die hypotherme Organ-Lagerung in Betracht kommt, müssen noch einige Fragen geklärt werden.

Zwar ist eine Gefährdung des Transplantat-Empfängers durch das mit dem Transplantat eingebrachte D_2O unwahrscheinlich, da auch bei großen Transplantaten durch die Verdünnung mit dem Gesamtkörperwasser der D_2O -Anteil sofort unter 0,02 abfällt und da lebensbedrohliche Stoffwechselstörungen im Tierexperiment erst bei D_2O -Anteilen von über 0,25 am Gesamtkörperwasser beobachtet wurden (11). Die Kenntnis der Höhe des Stabilisierungseffektes in Abhängigkeit vom D_2O -Anteil könnte jedoch zu einer sparsamen, gezielten Anwendung beitragen. Über die Konzentrations-Abhängigkeit hinaus dürfte jedoch außerdem eine Temperatur-Abhängigkeit bestehen, wie die deutlich stärkere Ausprägung der D_2O -Schutzwirkung am ischämischen Herzen in Hypothermie gezeigt hat (8).

In der vorliegenden Arbeit wurde an Hand einfacher Modelle (isolierte Organe von Mäusen und Ratten) der Einfluß von D_2O und Temperatur auf die Flüssigkeitsverschiebungen untersucht.

Material und Methoden

Schweres Wasser und Tritium-Wasser

Schweres Wasser (D_2O -Anteil 0,997) erhielten wir von der Fa. IC Chemikalien GmbH, München. Tritium-Wasser (HTO) mit einer spezifischen Aktivität von 5 Ci/l (185 GBq/l) von der Fa. Amersham-Buchler, Braunschweig.

Messung des D_2O -Gehalts

Die D_2O -Anteile wurden mit Hilfe eines selbst entwickelten Laser-Dioden-Photometers (Hersteller: Moses-Elektronik, Stuttgart) bei einer Wellenlänge von 1,35 μm gemessen (12, 13). Der D_2O -Gehalt von Puffer-Lösungen, Serum und Urin kann direkt – ohne Destillation – mit dem Laser-Photometer bestimmt werden. Um den D_2O -Anteil im Gewebe-Wasser von Organen zu erfassen, wurde das Gewebe-Wasser von den Organen durch Gefrier-Sublimation abgetrennt. War das Volumen der Wasserproben sehr klein, wurden die Photometer-Küvetten mit einer Mischung von 0,2 ml Wasser-Probe und 3 ml Aceton gefüllt. Als Leerwert dienten jeweils normale Wasserproben.

Messung der HTO-Konzentration

Aliquote der radioaktiven Lösungen wurden im Flüssig-Szintillations-Zähler der Fa. Berthold, Wildbad, gemessen. Die Radioaktivität im Organ-Wasser wurde nach kurzem Abspülen der Organe durch Rücktausch in eine primär HTO-freie Lösung (Aliquot-Entnahme nach 24 h) gemessen.

Lösungen für die Organ-Lagerung

Für Inkubations-Zeiten bis maximal 3 Stunden wurde teilweise physiologische Natriumchlorid-Lösung (9 g/l NaCl) verwendet.

Bei längeren Inkubations-Zeiten benutzten wir eine Mannit und Glucose enthaltende *Ringer*-Lösung folgender Zusammensetzung: NaCl 8,6 g/l, KCl 0,3 g/l, CaCl₂ 0,33 g/l, Glucose 6 g/l, Mannit 36 g/l. Die von *Collins* (14) angegebene Lösung (C2) hat folgende Zusammensetzung:

Lösung A (in 500 ml Wasser)		Lösung B (in 500 ml Wasser)	
KH ₂ PO ₄	2,05 g	KCl	1,12 g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	7,38 g	K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	9,70 g
Glucose	25 g	NaHCO ₃	0,84 g

Lösung A und B sind getrennt haltbar; für Versuche Mischung 1 Teil A + 1 Teil B.

Alle Lösungen wurden mit Wasser (H₂O mit natürlichem D₂O-Gehalt) bzw. mit Schwerem Wasser (D₂O) mit den angegebenen D₂O-Anteilen angesetzt. Die jeweils verwendeten Lösungen und D₂O-Anteile sind den Legenden der Abbildungen oder Tabellen zu entnehmen.

Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten weibliche CFI-Mäuse (Gewicht 28–30 g) der Fa. Hagemann, Börsingfeld. Bei den Versuchen mit Rattenleber (Abb. 2) wurden weibliche Wistarratten (SPF 67 Han) verwendet.

Organ-Entnahme und Bestimmung der Organ-Gewichte

Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet, Nieren und/oder Leber entnommen und ihr Gewicht sofort nach Abtupfen auf Filter-Papier mit einer automatischen Waage (Fehler ±1%) bestimmt. Die Inkubation erfolgte durch Einlegen der Organe in die entsprechenden Lösungen mit unterschiedlichem D₂O-Anteil ohne vorheriges Durchspülen des Gefäßsystems.

Bei den relativ kleinen Organen aus Mäusen ist dieses einfache Verfahren tolerierbar, da hier die Diffusionswege klein sind. Eine Perfusion der Organe vor ihrer Inkubation ist problematisch, da Unterschiede in der Durchströmung durch Schwankungen des Perfusionsdrucks oder Gefäßreaktionen bereits initial zu unterschiedlicher Wasseraufnahme ins Gewebe führen können.

Auch ohne Ödembildung ändern sich die Organ-Gewichte bei Inkubation in D₂O-haltigem Medium allein durch Austausch von H₂O gegen D₂O, da das spezifische Gewicht von reinem D₂O 10% höher ist als von H₂O (11). Diese Gewichtszunahme wurde unter Annahme eines initialen Wasser-Gehaltes in den Organen von 78% korrigiert.

Applikation von Schwerem Wasser bei Mäusen in vivo

Die Streuung der Gewichtszunahmen von Organen, die in D₂O-haltigen Lösungen inkubiert werden, ist geringer, wenn die Organe bereits vor Beginn der Inkubation mit Schwerem Wasser angereichert wurden. Eine Ursache mag darin liegen, daß die Organe erst ab Inkubationsbeginn das D₂O durch Austausch aus der Inkubations-Lösung aufnehmen können und daher das D₂O – je nach Penetration verzögert – einen Schutzeffekt ausübt. Um bereits bei der Organ-Entnahme einen hohen D₂O-Gehalt im Organwasser zu erhalten, wurde beim Versuch gemäß Abbildung 1 den Mäusen innerhalb eines Zeitraumes von 24 Stunden vor der Organentnahme 5 × je 2,5 ml physiologische NaCl-Lösung in D₂O (D₂O-Anteil 0,997) i.p. injiziert. Nach dieser Prozedur lag der D₂O-Anteil im Gewebe-Wasser der entnommenen Organe zwischen 0,35 und 0,38.

Alle anderen Versuche wurden mit unbehandelten Mäusen, also ohne vorherige Applikation von Schwerem Wasser ausgeführt.

Hämolyse

Erythrocyten wurden durch Zentrifugieren von heparinisiertem Frischblut gewonnen.

Die abzentrifugierten Erythrocyten wurden 3× mit physiologischer NaCl-Lösung (in H₂O bzw. D₂O) gewaschen und anschließend in hypotoner (4 g/l) NaCl-Lösung (mit H₂O bzw. D₂O) zu einer Zellsuspension mit einem Erythrocyten-Anteil von 0,05 suspendiert. Nach der Inkubation wurde zentrifugiert und im Zellüberstand das freigesetzte Hämoglobin nach l.c. (4) gemessen.

Ergebnisse und Diskussion

Eine der empfindlichsten Kenngrößen für die beginnende Schädigung isolierter Organe ist die Schwellung von Zellorganellen und schließlich des Gesamtorgans. Die Flüssigkeitsaufnahme und damit Gewichtszunahme eines in einer Konservierungs-Lösung gelagerten Organs beruht auf einem Flüssigkeitseinstrom in die Zellen infolge verminderter Aktivität energieabhängiger Membran-Pumpen. Ein solches Zellödem kann vermindert werden:

1. durch Verbesserung der energetischen Situation der Zellen
2. durch den Zusatz von schlecht membran-gängigen Substanzen wie Mannit oder Glucose auf Grund der von ihnen ausgeübten osmotischen Kräfte
3. durch eine direkte Membranstabilisierung, wie sie durch D₂O denkbar erscheint.

Verminderte Ödembildung bei Lagerung in D₂O-haltigem Medium

Daß D₂O Organe tatsächlich stabilisieren kann, zeigt die unterschiedliche Gewichtszunahme (Ödembildung) von Leber und Niere bei hypothermer Lagerung in physiologischer NaCl-Lösung mit H₂O bzw. D₂O (Abb. 1). Man erkennt deutlich bei beiden Organen eine verlangsamte Schwellung bei der Inkubation in D₂O-haltiger Lösung.

Die Versuche zur Organ-Stabilisierung mit Schwerem Wasser in physiologischer Natriumchlorid-Lösung sind zwar zur prinzipiellen Abklärung der Fragen geeignet und führten zu besseren Ergebnissen bei den mit D₂O behandelten Organen. Andererseits ist aber bereits nach zwei bis vier Stunden ein deutlicher Organzerfall (bei den Leberschnitten zeigt sich ein Abtrennen von Gewebestückchen) nachweisbar.

Verwendet man in der Klinik gebräuchliche Lösungen mit Zusatz des schlecht membrangängigen und damit auf die Zelle in Hypothermie osmotisch wirksam werdenden Substanzen Glucose und Mannit, so wird die Ödembildung weiter verzögert. Abbildung 2 zeigt an hypotherm gelagerter Rattenleber (7) das unterschiedliche Ausmaß des D₂O-Effektes bei zwei verschieden zusammengesetzten Lösungen: *Ringer*-

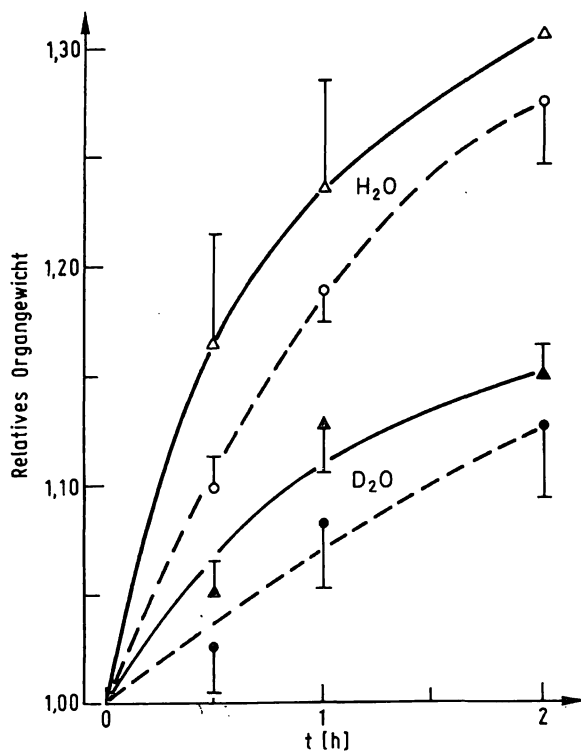


Abb. 1. Ödem-Bildung bei Niere (---, \circ H_2O , \bullet D_2O) und Leber (—, Δ H_2O , \blacktriangle D_2O) von Mäusen (CF1, ♀) in physiologischer NaCl-Lösung. D_2O -Anteil 0,40; Temperatur 4 °C; $\bar{x} \pm \sigma$, n = 5; Relatives Ausgangsgewicht 1,00.

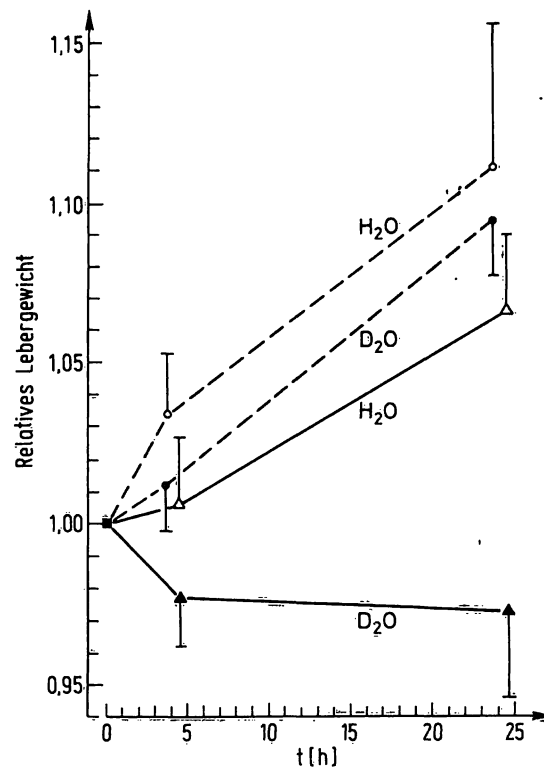


Abb. 2. Ödem-Bildung bei Rattenleber in hypertönen Lösungen. D_2O -Anteil 0,95; Temperatur 6 °C; $\bar{x} \pm \sigma$. --- Ringer-Glucose-Mannit-Lösung, \circ H_2O (n = 16), \bullet D_2O (n = 5). — Glucose-hältige C2-Lösung nach Collins, Δ H_2O (n = 10), \blacktriangle D_2O (n = 5). Die Lebern wurden vor der Inkubation mit den jeweils entsprechenden Lösungen (H_2O bzw. D_2O) freigespült. Relatives Ausgangsgewicht 1,00. Vgl. l.c. (7).

Glucose-Mannit-Lösung (hohe Mannit-Konzentration) bzw. C2 nach Collins (hohe Glucose-Konzentration) (14).

Auch hier ist in beiden Fällen ein deutlicher Schutzeffekt des Schweren Wassers nachweisbar, jedoch ist die D_2O -Wirkung in der Collins-Lösung wesentlich besser.

Trotz der Hemmung der Ödembildung nach 24 h hypothermer Lagerung fand sich bei beiden Lösungen in D_2O ein stärkerer Verlust zellulärer energiereicher Adeninnucleotide als bei den H_2O -Vergleichslösungen. Mit einer anderen Lösung (C2-S) fand sich sowohl eine verminderte Ödembildung als auch eine bessere Erhaltung des Adeninnucleotidgehaltes der Lebern bei Freispülen und Lagern der Organe mit der D_2O -haltigen Lösung (7, 9).

Sowohl in physiologischer NaCl-Lösung als bei der Mannit-haltigen Ringer-Lösung findet man an Hand der Gewichtszunahme von Mäuse-Nieren eine verringerte Organschwellung mit steigendem D_2O -Anteil (Abb. 3). Dabei zeigt sich jedoch keine lineare Abhängigkeit. In einer Analogie zu früheren Befunden mit anderen Systemen ergeben geringere D_2O -Gehalte (D_2O -Anteil 0,1–0,3) einen größeren Zuwachs der Schutzwirkung als D_2O -Anteile im Be-

reich von 0,5–1,0. Auch bei den Untersuchungen über den ATP-Zerfall in Leberproben, die mit Puffer unterschiedlichen D_2O -Gehalts durchströmt worden waren, war eine ähnliche nicht-lineare Abhängigkeit gefunden worden (6).

Aus den Ergebnissen gemäß Abbildung 3 ist – übereinstimmend mit früheren Befunden – zu schließen, daß bei der Organ-Konservierung bereits mit einem D_2O -Anteil von 0,15–0,25 signifikante Schutzeffekte erreichbar sind. Inwieweit der D_2O -Schutzeffekt wirklich einen Schutz des Organs in Bezug auf die Funktionserhaltung darstellt, müssen jedoch Transplantations-Experimente zeigen.

So führt ein bloßes Einbringen eines (hier durch Mannit) vor dem Zellödem teilweise geschützten Organs in eine Mannit-freie Umgebung (wie es ja auch bei einer Transplantation geschieht) (1, 15) zum sofortigen nachträglichen Ödem; und zwar auch dann, wenn die vorherige Ödembildung durch D_2O gegenüber den Werten in H_2O vermindert war (s. Abb. 4). Aber noch in dieser Phase ist die Ödembildung im D_2O -Medium geringer als in Wasser.

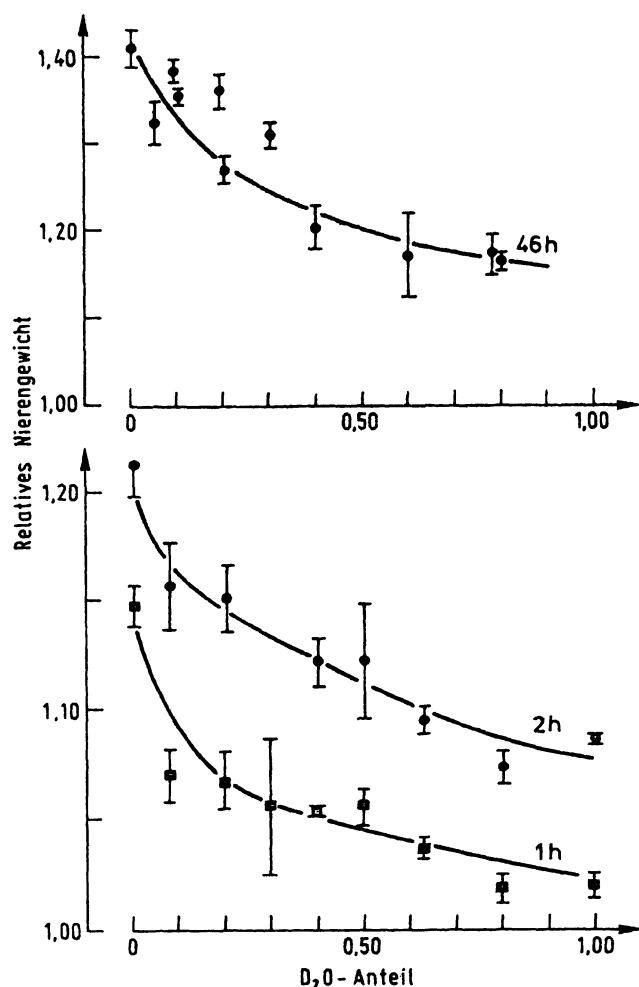


Abb. 3. Einfluß der D₂O-Konzentration auf die Ödem-Bildung in Mäuse-Nieren. Temperatur 4 °C; $\bar{x} \pm \sigma_x$. Oberer Teil: Inkubation in Ringer-Glucose-Mannit-Lösung, n = 5. Unterer Teil: Inkubation in physiol. NaCl-Lösung, n = 7; Inkubation bei D₂O-Anteil 0, n = 18. Relatives Ausgangsgewicht 1,00.

Beruhet die verminderte Ödembildung in D₂O auf einer verlangsamten Diffusion von Schwerem Wasser?

Die unterschiedliche Wasseraufnahme in Organen, die in H₂O bzw. Schwerem Wasser gelagert wurden, könnte auf einer unterschiedlichen Penetrationsgeschwindigkeit von D₂O und H₂O beruhen, da D₂O eine – im Vergleich zu H₂O – um 12% verminderte Diffusions-Geschwindigkeit zeigt (11). Um diese Frage zu klären, wurde der Einstrom von Wasser mit isotopem Wasserstoff (D₂O bzw. Tritium-Wasser) von Außen-Medium in das Organ-Wasser in H₂O- bzw. D₂O-Lösungen gemessen. Gemäß Tabelle 1 (Zeile 1–3) ist nach Abschluß der Inkubation die Konzentration an Tritium-Wasser (HTO) im Organ-Wasser in D₂O-haltigen Lösungen kaum geringer als bei den H₂O-Kontrollen. Das bedeutet: Trotz der kleineren Diffusions-Geschwindigkeit der schwere-

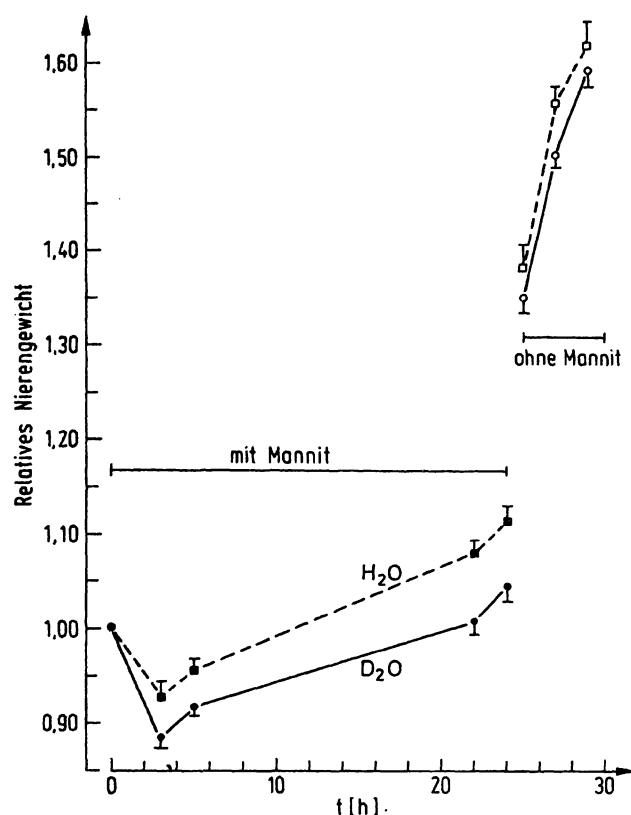


Abb. 4. Ödem-Bildung in Mäuse-Nieren in Ringer-Glucose-Mannit-Lösung und Mannit-freier Lösung. Temperatur 4 °C; $\bar{x} \pm \sigma_x$, n = 6. Im Zeitraum 0–24 h wurde in Ringer-Glucose-Mannit-Lösung (in H₂O, □ bzw. Anteil von 0,98 D₂O, ●) inkubiert. Danach kamen die Organe beider Gruppen in eine Mannit-freie Ringer-Glucose-Mannit-Lösung (mit H₂O □, ○). Zusammensetzung der Lösungen siehe Methodik. Relatives Ausgangsgewicht 1,00.

ren Wassermoleküle (hier HTO) im Vergleich zu H₂O, ist – nach Inkubationszeiten von 2 bzw. 23 Stunden – für HTO kaum eine verlangsamte Penetration vom Außen-Medium in das Organwasser beim Wechsel vom H₂O-Medium zu einem D₂O-haltigem Medium feststellbar. Daher ist auch zu erwarten, daß nach Inkubationszeiten von einigen Stunden D₂O nicht weniger in das Organ-Wasser eingeströmt ist als H₂O. Vergleicht man den D₂O-Gehalt im Außen-Medium (Tab. 1 letzte Zeile) mit dem D₂O-Anteil im Organ-Wasser nach Ende der Inkubation, so findet man einen vollständigen Konzentrationsausgleich (D₂O-Anteil im Außen-Medium 0,80, im Organ-Wasser 0,78). Die Unterschiede in der von den Organen aufgenommenen Wassermenge (Ödembildung) sind dagegen erheblich.

Demnach beruht der verminderte Wasser-Einstrom in die Organe bei mehrstündiger Lagerung in D₂O-haltigen Lösungen auf einer Zell- oder Membranstabilisierung und nicht – was denkbar wäre – auf der langsameren Diffusion von D₂O im Vergleich zu H₂O.

Tab. 1. Beruht die verminderte Ödembildung in D₂O auf der langsameren Diffusion von Schwerem Wasser im Vergleich zu H₂O? Je 5 ml Lösung mit Organproben von etwa 150–200 mg wurden mit Tritium-Wasser (HTO) versetzt und nach den angegebenen Inkubationszeiten bei 4 °C die HTO-Konzentration des Organ-Wassers bestimmt und auf die HTO-Konzentration im Inkubationswasser bezogen. Außerdem wurde die Gewichts-Zunahme der Organe gemessen. ($\bar{x} \pm \sigma$)

*) Beim Versuch mit einem D₂O-Anteil von 0,80 wurde der D₂O-Gehalt des Organ-Wassers bestimmt.

Bedingungen (n)	Relative Änderung des Organgewichts [Anteil von Ausgangsgewicht; Ausgangsgewicht = 1,00]			HTO-Gehalt im Organ-Wasser nach Inkubation [Anteil des HTO im Inkubations-Wasser]		
	in H ₂ O	in D ₂ O	D ₂ O/H ₂ O	in H ₂ O	in D ₂ O	D ₂ O/H ₂ O
Physiol. NaCl-Lösung D ₂ O-Gehalt 0,44 (2 h)						
Niere (6)	0,147 ± 0,017	0,049 ± 0,022	0,33	0,697 ± 0,020	0,635 ± 0,020	0,91
Leber (6)	0,237 ± 0,023	0,153 ± 0,030	0,65	0,641 ± 0,020	0,641 ± 0,030	1,00
Mannit-Lösung D ₂ O-Gehalt 0,50 (23 h)						
Niere (5)	0,063 ± 0,020	0,020 ± 0,004	0,31	0,951 ± 0,020	0,926 ± 0,010	0,97
D ₂ O-Gehalt 0,80 (46 h)						
Niere (4)	0,414 ± 0,040	0,173 ± 0,050	0,42	—	0,778 ± 0,010*)	0,97

Aus Tabelle 1 ergibt sich außerdem, daß – ohne Perfusion – eine Inkubationszeit von 2 Stunden noch zu kurz ist, um ein Gleichgewicht der HTO-Anteile im Außen-Medium und im Organ-Wasser zu erreichen, da das Organ-Wasser erst etwa 2/3 des Außengehalts an HTO enthielt. Man muß also damit rechnen, daß Organe, die in D₂O-haltige Lösungen eingelegt werden, auch erst im Laufe einiger Stunden das D₂O in das Organ aufnehmen und damit eine D₂O-Stabilisierung erst verzögert eintritt.

Dagegen ist durch Organ-Perfusion mit D₂O-haltigen Konservierungs-Lösungen ein beschleunigter Eintritt des D₂O in das Gewebe und das Zellinnere und damit eine sofort einsetzende Membran-Stabilisierung erreichbar (s. auch Abb. 2 dieser Arbeit und Abb. 1 in l.c. (6)).

Vergrößerter D₂O-Schutzeffekt bei fallender Temperatur

Abbildung 5 zeigt den Schutzeffekt (Gewichtszunahme in H₂O/Gewichtszunahme in D₂O) bei Nieren in Abhängigkeit von der Temperatur der Inkubations-Lösung. Entsprechend den Angaben in l.c.

(11) steigt der Isotopie-Effekt (hier der Schutzeffekt) mit fallender Temperatur. Diese Aussage wird durch die Befunde mit Human-Erythrocyten (Abb. 6) bestätigt: Die Schutzwirkung von D₂O bei der Hämolyse in hypotoner NaCl-Lösung ist bei niedriger Temperatur (8 °C) größer als bei höherer Temperatur (20 °C).

Auch bei Ischämie des Herzens wird der Verlust an Adennucleotiden durch D₂O bei 7 °C stärker reduziert als bei höheren Temperaturen (8).

Organe, die für Transplantationen vorgesehen sind, werden zwar ohnehin bei erniedrigten Temperaturen gelagert, um den Stoffwechsel möglichst gering zu halten. Nach den Ergebnissen unserer Modell-Versuche stellen niedrige Temperaturen aber gleichzeitig die günstigste Bedingung für eine optimale Schutzwirkung von D₂O auf konservierte Zellen und Organe dar.

Danksagung

Wir danken Frau Scholl, Frau Brüggner und Herrn Kamann für interessierte experimentelle Mitarbeit.

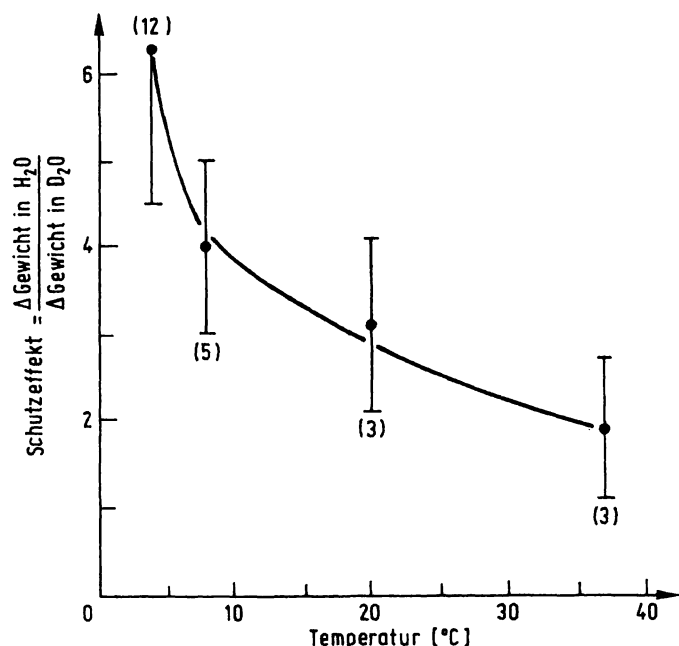


Abb. 5. Temperatur-Abhängigkeit des Schutzeffekts von D_2O bei der Ödem-Bildung in Mäuse-Nieren. Inkubation in physiol. NaCl-Lösung (2 h); D_2O -Anteil 0,98; $\bar{x} \pm \sigma$, n in Klammern angegeben.

$$\text{Schutzeffekt} = \frac{\Delta \text{Gewicht in H}_2\text{O}}{\Delta \text{Gewicht in D}_2\text{O}}$$

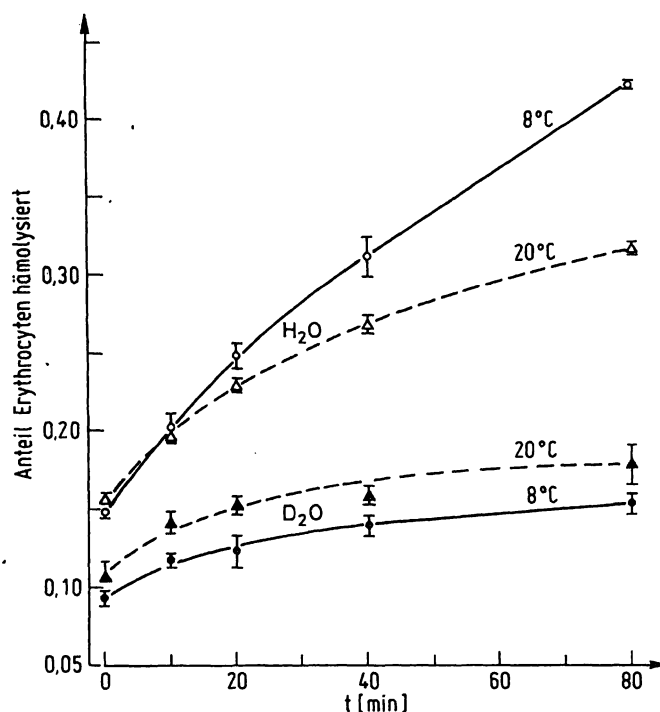


Abb. 6. Hämolysen von Human-Erythrocyten in 4 g/l NaCl-Lösung bei 8 °C (H_2O ○, D_2O ●) und 20 °C (H_2O △, D_2O ▲). D_2O -Anteil 0,98, $\bar{x} \pm \sigma$, n = 3.

Literatur

- Belzer, F. O., Hoffmann, R. M. & Southard, J. H. (1978) Surg. Clin. North Am. 58, 261–271.
- Thiede, A., Engemann, R. & Schröder, J. G. P. (1980) Zbl. Chirurgie 105, 953–967.
- Toledo-Pereyra, L. H., Chee, M. & Lillehei, R. C. (1978) Annals Thorac. Surg. 27, 24–31.
- Lemm, U. & Wenzel, M. (1981) Eur. J. Biochem. 116, 441–445.
- Wenzel, M. (1976) Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 14, 185–188.
- Wenzel, M. (1977) Naturwissenschaften 64, 441.
- Wenzel, M., Hölscher, B., Günther, T. & Merker, H. J. (1979) Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 17, 123–128.
- Fischer, J. H., Fuhs, M., Miyata, M., Wenzel, M. & Isselhard, W. (1980) Langenbeck's Arch. Chir. Supplement Chirurgisches Forum, 129–133.
- Fischer, J. H., Asmuth, C., Wenzel, M. & Isselhard, W. (1981) Langenbeck's Arch. Chir. Supplement Chirurgisches Forum, 45–50.
- Fischer, J. H., Reiferscheidt, G., Fuhs, M., Wenzel, M. & Isselhard, W. (1982) In: Organ preservation – basic and applied aspects. (Pegg, D. E., Jacobsen, I. A. & Halasz, N. A., eds): MTP Press, Lancaster 199–203.
- Fischer, J. H., Asmuth, C. & Wenzel, M. (1981) Experientia 37, 263–265.
- Thomson, J. F. (1963) Biological Effects of Deuterium Pergamon Press, Oxford, London, New York, Paris.
- Wenzel, M. (1981) Ang. Chem. 93, 793.
- Wenzel, M. (1979) Deutsche Offenlegungs-Schrift 2946431.1.
- Collins, G. M., Bravo-Shugart, M. & Terasaki, P. J. (1969) Lancet II, 1219–1222.
- Lambotte, L. & Wojcik, S. (1978) Surgery 83, 94–103.

Prof. Dr. M. Wenzel
Freie Univ. Berlin, FB 22
Königin-Luise-Str. 2–4
D-1000 Berlin 33 (Dahlem)

